

Aus der Universitäts-Augenklinik Marburg a. d. Lahn
Direktor: Professor Dr. med. W. Straub

Experimentelle Untersuchungen über den Metabolitgehalt im Endothel der Rinderhornhaut

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Rüdiger Turss
aus Berlin

Marburg 1967

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Universitäts-Augenklinik Marburg a. d. Lahn
Direktor: Professor Dr. med. W. Straub

Experimentelle Untersuchungen über den Metabolitgehalt im Endothel der Rinderhornhaut

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg



vorgelegt von

Rüdiger Turss

aus Berlin

Marburg 1967

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Universität Marburg a. d. Lahn
Direktor: Professor Dr. med. W. Straub

Angenommen von der Medizinischen Fakultät

der Universität Marburg am 4.7.1967

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr.med., Dr.med.dent.habil. H. Heuser

Referent: Doz. Dr.med. M. Reim

Correferent: Prof. Dr.med. W. Straub



INHALTSVERZEICHNIS

I	Einleitung	Seite 3
II	Fragestellung und Plan der Untersuchungen	8
III	Methodischer Teil	9
	1) Präparationstechnik	9
	2) Lagerungsversuche	11
	3) Kammerwasser	11
	4) Stroma	12
	5) Extraktion	12
	6) Metabolitbestimmungen	13
	7) Berechnung der Ergebnisse	17
IV	Ergebnisse	19
	1) Metabolite des Endothels in vivo	19
	2) Endothelmetabolite nach Lagerung	23
	3) Metabolite des Kammerwassers in vivo	26
	4) Kammerwassermetabolite nach Lagerung	27
	5) Metabolite des Stromas in vivo	29
V	Diskussion	30
	1) Kritische Betrachtung der Ergebnisse	30
	2) Gegenüberstellung des In-vivo-Metabolitstatus von Epithel und Endothel	31
	3) Vergleich der Metabolitkonzentrationen des Kammerwassers und der Hornhautschichten	32
	4) Vergleiche der Metabolitveränderungen in Endothel und Kammerwasser bei Lagerung	33
	5) Allgemeine biochemische Betrachtungen	36
VI	Zusammenfassung	37
VII	Methodischer Anhang, Tabellen	38
VIII	Verzeichnis der Abkürzungen	46
IX	Literaturverzeichnis	47



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Die Hornhaut des Auges hat neben mechanischen Aufgaben - Schutz und Abschluß des Auges und Aufrechterhaltung des Augeninnendruckes - wichtige Funktionen im Rahmen des optischen Apparates zu erfüllen. Als Fenster zur Umwelt ermöglicht die gesunde Hornhaut die Aufnahme getreuer, unverzerrter Bilder durch die Netzhaut. Diese Aufgaben können nur wahrgenommen werden, wenn Krümmung, Dicke und Transparenz der Cornea stets gleichbleibend erhalten werden. Für diese Funktion sind Leistungen ihres Stoffwechsels notwendig. In Anbetracht der Wichtigkeit des Sehens für das Individuum möchte diese Arbeit helfen, auf dem Wege zur Erkennung der komplexen Stoffwechselzusammenhänge der Hornhaut des Auges ein Stück voranzukommen.

1) Hornhaut

Die drei histologisch gut unterscheidbaren Schichten der Hornhaut: Epithel, Stroma und Endothel werden durch die BOWMANSche und die DESCOMETsche Membran getrennt, bilden aber eine funktionelle Einheit.

Die Zellen des Hornhautepithels haben nicht in allen Schichten - beim Menschen 5 - 8, beim Rind ca. 10 Lagen - die gleiche Struktur. Man findet kubische, z.T. zylindrische Basalzellen, deren Cytoplasma sich stark anfärben läßt und deren Zellkerne kontrastreich und deutlich strukturiert sind (ROHEN). Von diesen Basalzellen besteht über die runden Intermediärzellen ein fließender Übergang zu den flachen Deckzellen (HANNA und O'BRIEN).

Über Ultrastruktur und Histochemie der Epithelzellen haben vor allem JAKUS, TENG, PEDLER, RHODIN, CALMETTES, ROHEN und PENA-CARILLO gearbeitet.

Untersuchungen über die Enzymaktivitäten im Hornhaut-epithel der verschiedenen Säugetiere finden wir in der Literatur bei DELBRÜCK, KUHLMANN, KINOSHITA und MASURAT, REIM und Mitarbeitern. Metabolitanalysen machten LANGHAM, SÖLLNER, SÖLLNER und HOCKWIN, HERRMANN und HICKMAN, HERRMANN und LEBEAU, MORLEY und TOTH sowie REIM, SCHMIDT und MEYER.

Das Hornhautstroma besteht aus zwei typischen Elementen: den regelmäßig strukturierten, dicht und parallel gepackten Stromalamellen und den Stromazellen (JAKUS, DELBRÜCK), die die Stromalamellen produzieren. Die Stromalamellen bestehen aus kollagenen Fasern, die von einer Grundsubstanz aus Mukopolysacchariden (SMELSER) umgeben sind, welche das Hydratationswasser des Hornhautstromas fixieren und durch ihre osmotische Kraft den sogenannten Schwellungsdruck der Hornhaut erzeugen (MAURICE). Die Transparenz der Cornea wird durch eine zweite, dem Schwellungsdruck entgegengesetzte Komponente aufrechterhalten: Epithel und Endothel stellen durch ihren Stoffwechsel die Energie für eine "metabolische Pumpe" bereit, die den Austausch von Wasser, Natrium und Chlorid bewerkstelligt. Die Hornhauttransparenz ist also keine angeborene Eigenschaft, sondern eine Stoffwechselleistung.

Das Hornhautendothel ist eine regelmäßig gebaute, einzellige Schicht von $5\ \mu$ Höhe, deren Zellen viele Mitochondrien und große, ovale Zellkerne enthalten. Es besitzt keine Interzellularbrücken (Desmosomen), die Zellmembranen scheinen sich aber zur Basis hin zu berühren (JAKUS, DONN und Mitarbeiter). Elektronenoptisch konnte die Diffusion zahlreicher Substrate (MAURICE) und kolloider Partikel (KAYE und PAPPAS) erkannt werden. Die Interzellularspalten sind leichter durchgängig als die des Epithels; ihre Größe wird mit $10\ \mu \times 10\ m\mu$ angegeben. Aufgrund weiterer Diffusionsversuche glaubt daher MAURICE, daß die Versorgung der Hornhaut mit Glucose, Lactat, Pyruvat und Aminosäuren vom Kammerwasser her erfolgt.

2) Kammerwasser

Das Kammerwasser ist eine klare, farblose Flüssigkeit von geringer Viskosität. Es wird in der hinteren Augenkammer vom Ciliarepithel sezerniert und gelangt durch die Pupille in die vordere Kammer. Der Abfluß erfolgt über den SCHLEMMschen Kanal, einer Verbindung zwischen der vorderen Augenkammer und dem Gefäßsystem des intrascleralen Plexus (BURIAN, ROHEN und UNGER).

Das Kammerwasser ist einer Reihe von Einflüssen ausgesetzt, die seine Zusammensetzung teilweise verändern. Kalium und Bicarbonat werden z.B. durch Diffusion den Werten des Vollblutes angeglichen (DAVSON und Mitarbeiter). DUKE-ELDER und DAVSON glaubten, die Höhe des Glucosespiegels werde durch Stoffwechselansprüche von Linse und Cornea vermindert und die Milchsäurefraktion durch Freisetzung von Lactat erhöht. Diese Ansicht wurde aber von De BERARDINIS und Mitarbeitern sowie von POHJOLA kürzlich widerlegt.

Verglichen mit dem Blutplasma ist das Kammerwasser eiweißarm; zwar sind die einzelnen Komponenten der Eiweißfraktionen identisch, jedoch bestehen in den Proportionen erhebliche Abweichungen (ESSER, FRANÇOIS, SALLMANN und MOORE).

3) Vorhandene Untersuchungen über Ionentransport, Enzym- und Metabolitstatus der Hornhaut.

DONN, MAURICE und MILLS stellten als erste an isolierten Hornhäuten ein Membranpotential fest, was als Ausdruck für einen aktiven Transport gilt. GREEN und KIKKAWA bestätigten dies. GREEN gab aufgrund von Messungen der Flußraten für markierte Na^+ - und Cl^- - Ionen folgende Deutung: Es findet ein aktiver Transport von Natrium und Chloridionen durch die Hornhaut in Richtung auf das Endothel statt. In vitro nimmt die Chloridbewegung mit der Zeit immer mehr ab und führt so zur Steigerung der Potentialdifferenz.

Der Ionentransport dient zur Aufrechterhaltung des Quellungsdruckes der Hornhaut. HARRIS glaubt, daß dies durch eine von den Ionenverschiebungen relativ unabhängige Wasser-"Pumpe" geschieht, die ständig Wasser aus dem Stroma in die umgebenden Flüssigkeiten transportiert und damit, zumindest teilweise, dem aktiven Ionenfluß entgegengerichtet ist. Der gleichbleibende Hydratationszustand des Hornhautstromas garantiert einen bestimmten Abstand der Fibrillen voneinander sowie ein konstantes Verhältnis zwischen Fibrillen und der mukopolysaccharidhaltigen Zwischensubstanz und damit die Transparenz der Cornea. Jede Änderung des normalen Schwellungsdruckes bedeutet Trübung.

Daß diese "Pumpe" vom energieliefernden Stoffwechsel betrieben wird, bewiesen HARRIS und DAVSON durch den "temperature reversal effect": kühlt man die Cornea auf ca. $+ 4^{\circ}\text{C}$ ab, wird die Stoffwechselaktivität geringer und die Hornhaut trübt sich. Bei Wiedererwärmung tritt Klarheit der Hornhaut ein.

Daß Epithel und Endothel die Energie für diese Mechanismen bereitstellen, zeigte MAURICE dadurch, daß die nach Abrasion der Grenzschichten eingetretene Trübung wieder abnahm, sobald sich das Epithel regenerierte. Das Endothel allein konnte die Trübung nicht völlig beseitigen.

Ein klares Bild der Stoffwechselgrößen in den verschiedenen Schichten der Hornhaut geben folgende Untersuchungen von LANGHAM sowie HERRMANN und HICKMAN: Bei Lagerung der Hornhäute in glucosehaltigem Medium wurden die Lactatbildung unter aeroben und anaeroben Verhältnissen sowie andererseits der Sauerstoffverbrauch gemessen. Die Werte von Epithel und Endothel sind, relativ zum Feuchtgewicht, ungefähr gleich, liegen aber jeweils ca. 20 - 30-fach höher als im Stroma. Auffällig ist, daß auch unter aeroben Bedingungen sehr viel Lactat gebildet wird. Die Ergebnisse beim Kaninchen (LANGHAM) und beim Rind (HERRMANN und HICKMAN) sind grundsätzlich gleich.

Fußend auf enzymatisch-optischen Tests (WARBURG, BÜCHER und Mitarbeiter) konnten aus den Hornhäuten verschiedener Säugetiere eine ganze Reihe von Enzymen und Metaboliten zusammenhängend quantitativ bestimmt werden (REIM und Mitarbeiter), die den Schluß zulassen, daß die Hornhaut über die allgemeinen Stoffwechselwege Glycolyse, Zitronensäurezyclus und Hexosephosphat-Shunt verfügt. Zum Teil sind diese Ergebnisse den Werten dieser Arbeit gegenübergestellt.

REIM, HILDEBRANDT und MAIER gaben erstmals ein Enzymverteilungsmuster des Endothels bekannt. Angaben über den Metabolitstatus des Endothels finden sich in der Literatur nicht.

II. Fragestellung und Plan der Untersuchungen.

Es ist bis heute nicht eindeutig geklärt, ob das Epithel oder das Endothel für die Ernährung und die Aufrechterhaltung der Funktion der Hornhaut verantwortlich zu machen ist; oder, falls beide, in welchem Verhältnis sie die Stoffwechselenergie bereitstellen und sich die Transportaufgaben für Wasser, Ionen und Nährstoffe teilen. Auch das Symposium über die Biochemie des Auges in Tutzing im Rahmen des Internationalen Ophthalmologenkongresses 1966 gab keine volle Deutung.

Über Enzymverteilung und Metabolitstatus des Epithels liegen in neuerer Zeit Ergebnisse vor. REIM und Mitarbeiter gaben auch ein Enzymverteilungsmuster des Endothels bekannt; über die Metabolite des Hornhautendothels gibt es jedoch noch keine Arbeiten. Das liegt wahrscheinlich an den erheblichen methodischen Schwierigkeiten, die sich dem entgegenstellen.

In dieser Arbeit soll versucht werden, mit Hilfe von verschiedenen Präparationsmethoden den In-vivo-Metabolitstatus des Rinderendothels aufzustellen. Gegenüber dem Epithel leiten sich die Hauptschwierigkeiten daraus her, daß, abgesehen vom geringen Gewebsgewicht, das Endothel nicht direkt zugänglich ist und jede Präparation mit bestimmten Endothelläsionen verbunden ist. Nach BÜCHER ist der ATP/ADP^+ -Quotient ein wichtiger Indikator für Gewebsalteration; an ihm wollen wir den Grad der Läsion beurteilen.

Durch Lagerungsversuche sollen die Veränderungen im energieliefernden Stoffwechsel von Endothel und Kammerwasser bestimmt werden.

Außerdem sollen In-vivo-Metabolitgehalte in Stroma und Kammerwasser des Rinderauges untersucht werden.

⁺Verzeichnis der Abkürzungen: S. 46.

III. Methodischer Teil

Wegen des hohen Endothelgewichtes verwendeten wir für unsere Versuche ausschließlich Rinderaugen.

Kaninchen	3,35 ¹⁾ 2,5 ⁴⁾	1) <u>FRENCH</u> = <u>DUMA</u>
Rind	8,5 ²⁾ 7,5 ³⁾ 10,1 ⁵⁾	2) <u>KAWERAU</u> = <u>OTT</u>
Schwein	3,39 ⁴⁾	3) <u>HERRMANN</u> = <u>HICKMAN</u>
Mensch	2,2 ⁴⁾	4) <u>HILDEBRANDT</u> = <u>MAIER</u>
		5) <u>Eigene</u> = <u>Arbeit</u>

Tabelle 1

Endothelgewichte in Milligramm.

Mit Unterstützung des Marburger Schlachthofdirektors, Herrn Dr. Dr. WANDT, sowie des Personals konnten wir die Augen an Ort und Stelle präparieren. Außerdem erhielten wir die Augen kurz nach dem "Schießen", noch vor dem Abstechen der Rinder, so daß der Blutkreislauf der Augen erst mit der Enucleation unterbrochen wurde. Das half uns, die Zeitspanne bis zur Verarbeitung sehr kurz zu halten.

1) Präparationstechnik

Zur Endothelpräparation verwendeten wir drei Methoden:

- a) Warme Abrasion,
- b) Frierstopverfahren,
- c) Injektion von HClO_4 und anschließende Abrasion.

a) Warme Abrasion:

Nach der Enucleierung durch den Schlächter spülten wir Blutreste mit physiologischer Kochsalzlösung von der Cornea ab. Nun schnitten wir die Hornhaut so aus dem Bulbus heraus, daß ein ca. 1 mm breiter Sclerarand bestehen blieb. Faßt man Ciliarkörper und Iris mit

einer, den Sclerafalz mit einer zweiten Pinzette, so läßt sich die Iris leicht vom Sclerafalz trennen. Nun stülpten wir die Hornhaut entgegen ihrer normalen Krümmung auf einen konvex geschliffenen Metallblock und schabten mit einem hockeyschlägerförmigen Messer das Endothel ab. Das Abradat ließen wir in flüssigen Stickstoff fallen. Diese Präparationsmethode dauert ca. 2 Minuten.

b) Frierstopverfahren:

Nach Enucleation und Abspülen der Rinderaugen exzidierten wir die Cornea ungefähr 1 mm innerhalb des Limbus, faßten sie am Rande mit einer feinen Pinzette und legten sie mit dem Endothel nach oben auf einen konvex geschliffenen Metallblock. Dabei vermieden wir sorgfältig Läsion oder gröbere Fältelung des Endothels. Sofort anschließend froren wir die Hornhaut mittels eines konkav geschliffenen Metallstempels ein, der vorher in flüssigem Stickstoff gelagert hatte. Die Hornhaut bewahrten wir dann in flüssigem Stickstoff auf. Von der Enucleation bis zum Frierstop brauchten wir ca. 90 Sekunden.

Die eingefrorenen Hornhäute abradierten wir unter flüssigem Stickstoff in einem Porzellanmörser. Dazu wurden sie in einen Nadelhalter eingespannt. Mit einem kräftigen Skalpell schabten wir eine feine obere Schicht ab. Das Abradat wurde dann so in 1,3 ml 0,5n HClO_4 aufgefangen, daß das Endothel erst in ihr auftaute.

c) Injektionsmethode

Nach Enucleation und Abspülen der Augen injizierten wir nahe dem Limbus ca. 1 ml 2n HClO_4 in die vordere Augenkammer. Dabei trat sofort eine starke Trübung der Linse ein. Die Hornhaut zeigte eine langsam sich verstärkende leichte Trübung. Nach Setzen einer Gegeninzision am gegenüberliegenden Limbusrand durchspülten wir die Vorderkammer mit weiteren 4 ml 2n HClO_4 .

Nun folgten Präparation und Abrasion wie unter a) beschrieben. Von der Enucleation bis zum Durchspülen benötigten wir ca. 20 - 30 Sekunden.

2) Lagerungsversuche

Wir verwendeten für Versuche mit Lagerungszeiten von mehr als einer Stunde auch solche Rinderaugen, die erst bis zu 5 Min. nach Abstechen der Schlachttiere enucleiert wurden. Hierbei werteten wir den Zeitpunkt des Abstechens als Beginn des Lagerungsversuches. Die intakten, mit physiologischer Kochsalzlösung abgespülten Augen bewahrten wir in feuchten Kammern bei Zimmertemperatur von 20° - 24°C auf.

Nach ca. 24 Stunden trat eine deutliche Trübung in Limbusnähe und eine hauchzarte Trübung der gesamten Hornhaut auf. Nach 30 Stunden hatte sich ein zarter Schleier ausgebildet. Deutliche Trübung lag nach ungefähr 42 Stunden vor. 50 Stunden nach der Enucleation erschien die Cornea milchig trüb und durchscheinend.

Nach den verschiedenen Lagerungszeiten wendeten wir das oben beschriebene Frierstopverfahren an.

3) Kammerwasser

Das Kammerwasser entnahmen wir mit einer 1ccm-Rekord-Spritze und 2-er Kanüle. Nach Einstechen nahe am Limbus achteten wir darauf, weder Iris noch Endothel zu ritzen.

Wir erhielten fast immer 1 ccm Kammerwasser; bei sehr kleinen Augen enthielt die Vorderkammer nur ca. 0,8 - 0,9 ml.

Das Kammerwasser fingen wir in 2 ml $0,5\text{n HClO}_4$ auf. Von der Enucleation bis zum Einbringen in die Perchlorsäure vergingen 50 - 60 Sekunden. Bei den Lagerungsversuchen hoben wir die Augen in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur auf.

4) Stroma

Zur Gewinnung des Stromas abradierten wir zunächst am frischen Rinderauge das Epithel mit einem feinen Skalpell, excidierten die Cornea ca. 1 mm innerhalb des Limbus und stülpten sie umgekehrt auf einen konvexen Metallblock. Nun abradierten wir das Endothel mit einem Hockeymesser. Das Stroma (mit BOWMANscher und DESCOMETscher Membran) froren wir nach dem Frierstopverfahren ein. In einem Porzellanmörser zerkleinerten wir das Stroma unter flüssigem Stickstoff, überführten es in 4 ml 0,5n HClO_4 und homogenisierten es 10 x 30 Sek. lang unter ständiger Kühlung im Ultraturrax (Fa. Janke und Kunkel, Staufen, Br.).

5) Extraktion

Die Endothelabradate von jeweils 4 Rinderaugen wurden in 1,3 ml 0,5n HClO_4 aufgefangen und tauten in ihr auf. Mit einem Glas-in-Glas-Homogenisator nach Potter homogenisierten wir das Gewebe 6 x 30 Sek. und zentrifugierten die ausgefällten Eiweiße 5 Min. bei 4000 U/min in der Zentrifuge "Junior III" der Fa. M. Christ, Osterode/Harz ab. Nach Nachextraktion mit 0,8 ml 0,5n HClO_4 und nochmaligem Zentrifugieren (5 Min. bei 4000 U/min) neutralisierten wir den Extrakt auf pH 6,5 durch Tüpfeltitration mit Spezialindikatorpapier (Merck) mit 10n KOH. Das extrahierte und nachextrahierte Sediment bewahrten wir zur Trockengewichtsbestimmung (s.u.) bei 80°C im Trockenschrank auf. Aus dem neutralisierten Extrakt zentrifugierten wir 5 Min. bei 4000 U/min die KClO_4 ab. Im Überstand, ca. 2,1 ml, bestimmten wir dann die Metabolitgehalte. Während der gesamten Extraktion kühlten wir den Extrakt mit eiskaltem Wasser.

Die Extraktion des Kammerwassers und des Stromas wurde sinngemäß gleich ausgeführt. Vom Kammerwasser, bei dem sich eine Nachextraktion erübrigte, ergaben sich 3,1 ml Extrakt; vom Stroma bei einem Nachextrakt mit 1,0 ml erhielten wir 4,5 ml Extraktvolumen.

6) Metabolitbestimmungen

Die quantitativen Metabolitanalysen wurden nach den von HOHORST, KREUTZ und BÜCHER angegebenen Methoden ausgeführt. Aus Endothel und Stroma wurden folgende Metabolite bestimmt: ATP, ADP, AMP, DAP, FDP, BTS, G-6-P, Lactat und Glucose. Aus dem Kammerwasser analysierten wir mit geringfügig modifizierten Testzusammensetzungen: BTS, Lactat und Glucose.

Die Reagenzien, die ebenso wie die Extrakte stets mit eiskaltem Wasser gekühlt wurden, stammen mit Ausnahmen des DPNH von den Firmen Boehringer und Merck. Da alle uns erreichbaren DPNH-Boehringer-Chargen AMP enthielten, verwendeten wir das durch Ionenaustausch gereinigte DPNH der P-L Biochemicals Inc, Milwaukee, USA.

Zum Pipettieren kleiner Flüssigkeitsmengen verwendeten wir das Mikropipetten-System "Marburg" der Fa. Netheler und Hinz, Hamburg-Wellingbüttel.

Die Extinktionsunterschiede wurden im Eppendorf-Photometer der Fa. Netheler und Hinz in Verbindung mit dem Philips-Schreiber PR 2210 A/21 gemessen.

Kombinierte Bestimmung von G-6-P und ATP:

Schreibskala 0 - 0,25; Filter 334 m μ ;

Halbmikrocuvette d = 2

0,50 ml TRAP 100 mM
EDTA 1 mM pH 7,6

0,01 ml MgCl₂ 100 mM

0,02 ml TPN 25 mM (20 mg/ml)

0,50 ml Extrakt

Start: 0,01 ml G-6-PDH 1:20 (G-6-P - Bestimmung)

Start: 0,01 ml Glucose 100 mM

Start: 0,01 ml HK (ATP - Bestimmung)

Kombinierte Bestimmung von DAP, FDP, BTS, ADP, AMP:

Schreibskala 0 - 0,25; Filter 334 m μ ;

Halbmikrocuvette d = 5

1,00 ml	TRAP	100 mM	pH 7,6
	EDTA	1 mM	
0,02 ml	MgCl ₂	100 mM	
0,01 ml	DPNH	2mg/ml	
1,00 ml	Extrakt		

Start:	0,01 ml	GDH	1:10	(DAP - Bestimmung)
Start:	0,01 ml	ALTIM	1:20	(FDP - Bestimmung)
Start:	0,01 ml	LDH	1:10	(BTS - Bestimmung)
Start:	0,02 ml	PEP-C	32 mM (15 mg/ml)	
Start:	0,002 ml	PK unverdünnt		(ADP - Bestimmung)
Start:	0,01 ml	MK	1:5	(AMP - Bestimmung)

Die Verdünnung der GDH-Suspension darf nicht älter als drei Tage sein.

ALTIM 1:20 ist eine Mischung von:

ALD 1:20 und

TIM 1:20

Bestimmung von L(+)-Lactat:

Schreibskala 0 - 0,25; Filter 334 m μ ;

Halbmikrocuvette d = 2

0,45 ml Hydrazinpuffer nach HOHORST:

0,4 m Hydrazinsulfat

1,0 m Glykokoll

0,005 m EDTA

mit NaOH auf pH 9,5 eingestellt.

0,05 ml DPN 60 mM (40 mg/ml)

0,40 bzw. 0,45 ml H₂O

0,10 bzw. 0,05 ml Extrakt

Start:	0,02 ml	LDH	1:2	(Lactat-Bestimmung)
--------	---------	-----	-----	---------------------

Den Hydrazinpuffer bewahrten wir, in kleinen Portionen abgefüllt, eingefroren im Tiefkühlfach auf. L(+)-Lactat wurde in zwei Tests doppelt bestimmt.

Bestimmung von D-Glucose:

Schreibskala 0 - 0,25; Filter 334 m μ ;
Halbmikrocuvette d = 2

0,50 ml	TRAP	100 mM	pH 7,6
	EDTA	1 mM	
0,01 ml	MgCl ₂	100 mM	
0,01 ml	ATP	75 mM	(45,5 mg/ml)
0,01 ml	G-6-PDH	1:10	
0,02 ml	TPN	25 mM	(20 mg/ml)
0,2 - 0,4	Extrakt		
ad 1,0 ml	H ₂ O		

Start: 0,01 ml HK 1:10 (D-Glucose-Bestimmung)

Diese Tests führten wir mit den Endothel- und den Stroma-Extrakten durch, sowohl zur In-vivo-Gehaltmessung als auch bei den Lagerungsversuchen.

Zur Metabolitbestimmung aus den Kammerwasserextrakten gingen wir folgendermaßen vor:

Bestimmung von BTS:

Schreibskala 0 - 1,0; Filter 334 m μ ;
Normalcuvette d = 2

1,00 ml	TRAP	100 mM	pH 7,6
	EDTA	1 mM	
0,02 ml	DPNH	11 mM	(8 mg/ml)
1,00 ml	Extrakt		

Start: 0,01 LDH 1:10 (BTS - Bestimmung)

Bestimmung von L(+)-Lactat:

Schreibskala 0 - 1,0; Filter 334 m μ ;
Normalcuvette d = 1

0,45 ml Hydrazinpuffer nach HOHORST
0,05 ml DPN 60 mM (40 mg/ml)
0,01 - 0,1 ml Extrakt
ad 1,0 ml H₂O

Start: 0,02 LDH 1:2 (L(+)-Lactat-Bestimmung)

Der Extrakteinsatz richtete sich nach dem Lactatgehalt;
bei höherem Extinktionsunterschied als 0,700 wieder-
holten wir die Lactatbestimmung mit kleinerem Einsatz.

Bestimmung von D-Glucose:

Schreibskala 0 - 1,0; Filter 334 m μ ;
Normalcuvette d = 1

0,50 ml TRAP 100 mM
EDTA 1 mM pH 7,6
0,01 ml MgCl₂ 100 mM
0,01 ml ATP 75 mM (45,5 mg/ml)
0,01 ml G-6-PDH 1:10
0,02 ml TPN 25 mM (20 mg/ml)
0,1 - 0,5 ml Extrakt
ad 1,0 ml H₂O

Start: 0,01 ml HK 1:10 (D-Glucose-Bestimmung)

Auch hier richtete sich der Extrakteinsatz nach dem
Metabolitgehalt.

"Start" heißt: Nach Ablauf der vorhergehenden Reaktion
beziehungsweise Prüfen eines Rühreffektes wurden die
kleinen Flüssigkeitsmengen mit Mikropipetten auf einen
feinen Kunststoffstab aufgebracht ("Plümper") und ohne
Verlust in die Cuvette eingerührt.

7) Berechnung der Metabolitkonzentrationen

Nach folgender Formel:

$$\frac{\Delta E \times \text{Testvolumen} \times \text{Extraktvolumen}}{\epsilon \times d \times \text{Spreizung} \times \text{Einsatzvolumen} \times \text{Gewebsgewicht}} = \frac{\text{Mol}}{g_{\text{frisch}}}$$

$$\begin{aligned} \Delta E &= \text{Extinktionsdifferenz} \\ \epsilon &= \text{Extinktionskoeffizient} \\ &\quad (\text{für } 334 \text{ m}\mu = 6,09 \times 10^6 \text{ nach HOHORST}) \\ d &= \text{Schichtdicke der Cuvette} \end{aligned}$$

Das Gewebsgewicht bestimmten wir folgendermaßen:

Die Abradate von warmer Abrasion und Injektionsmethode ließen sich vor der Extraktion im vorgewogenen "Glaspotter" wiegen. Wir bestimmten aus den Extraktsedimenten dieser Versuche durch Trocknung den Faktor, mit dem man das Gewicht des getrockneten Rückstandes multiplizieren muß, um das Frischgewicht zu erhalten. Die statistische Auswertung ergab einen Faktor von 3,79 ($n=19, s_M=0,193$). Mit ihm berechneten wir das Frischgewicht der frierge-stoppten Endothelien, da sich hierbei die Abradate wegen Wasseradsorption nicht vor der Extraktion wiegen ließen.

Das Kammerwassergewicht wurde im Reagenzglas mit eingewogener HClO_4 vor der Extraktion bestimmt.

Die Wägungen wurden mit der Mettler-Waage H16 der Fa. Spoerhase, Gießen, ausgeführt.

Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Lagerungsversuche werden in Tabellen und Diagrammen wiedergegeben, die In-vivo-Status-Ergebnisse wurden außerdem noch den folgenden Formeln entsprechend ausgewertet:

Die Zahl der Versuche ist n

$$\text{Mittelwert } M = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Streuung } s^2 = \frac{\sum x^2 - (M \cdot \sum x)}{n - 1}$$

$$\text{Standardabweichung } s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (M \cdot \sum x)}{n - 1}}$$

$$\text{Streuung des Mittelwertes der Stichproben } s_M^2 = s^2 \cdot \frac{1}{n}$$

$$\text{Standardabweichung des Mittelwertes } s_M = s \cdot \frac{1}{\sqrt{n}}$$

IV. Ergebnisse

1) Die Metabolite des Hornhautendothels in vivo.

Die Metabolitgehalte des Rinderendothels sind in Tabelle 2 aufgeführt und in Abbildung 1 als Metabolitmuster graphisch dargestellt. Die Hornhäute wurden innerhalb 90 Sekunden nach der Enucleation mittels Frierstopverfahren präpariert.

Metabolit	M	S_M	n
Lactat	4437	387,7	12
Pyruvat	172	10,3	11
L/P	25,5	2,13	11
DAP	6,32	1,29	6
G-6-P	30,4	3,96	8
FDP	13,2	2,06	12
Glucose	1399	71,1	12
ATP	394	27,7	12
ADP	64,6	8,29	12
ATP/ADP	6,82	0,64	12
AMP	24,2	4,46	12
AP	483,6	37,3	12

Tabelle 2

Metabolitgehalte des Rinder-Hornhautendothels in vivo (Frierstop). Mittelwerte M und Standardabweichung des Mittelwertes S_M in nMol/g Frischgewebe.

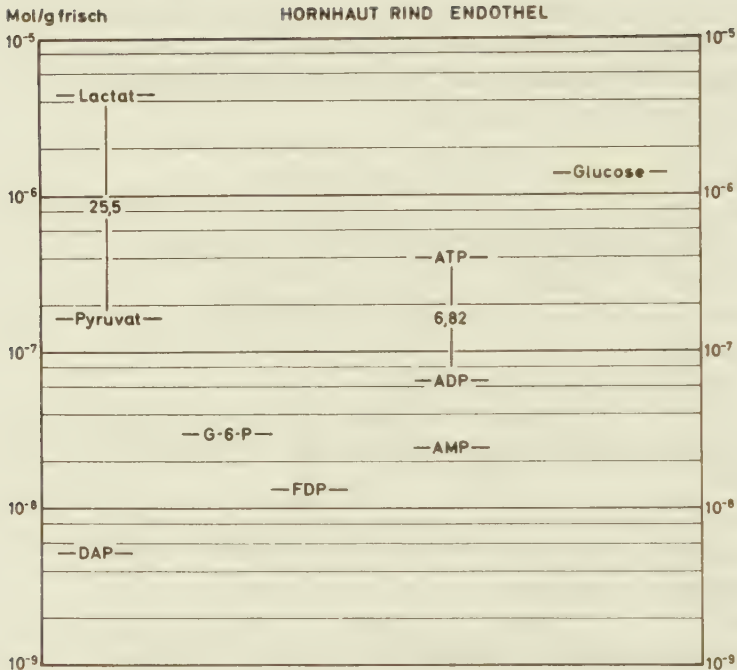


Abb. 1

Metabolitmuster des Endothels in vivo (Frierstop).
Logarithmischer Maßstab. Metabolitgehalte in Mol/g
Frischgewicht.

Die folgende Gegenüberstellung mit den Metabolitwerten des Injektionsverfahrens und der warmen Abrasion zeigt, daß die Präparation mit der Frierstopmethode die besten Ergebnisse liefert. Besonders am ATP-Gehalt bzw. am ATP/ADP-Quotienten wird deutlich, wie stark die Läsion der warmen Abrasion sich in Metabolitveränderungen ausdrückt. Bei Anwendung der Injektionsmethode erhält man zwar annähernd ebenso hohe ATP/ADP-Quotienten, die Summe der Adenosinphosphate liegt aber deutlich niedriger. Das konnten wir durch mikroskopische Kontrollen so erklären, daß durch den Druckaufwand bei der Injektion Endothel und DESCEMETSche Membran sich teilweise ablösen und verloren gehen.

Metabolit	M	S _M	n
Lactat	5248	725,0	6
Pyruvat	228	29,8	6
L/P	23,2	2,44	6
DAP	16,9	5,21	5
G-6-P	21,6		3
FDP	13,3	1,84	5
Glucose	2119	401	6
ATP	137,1	28,6	6
ADP	143,1	25,9	6
ATP/ADP	1,06	0,23	6

Tabelle 3

Metabolitgehalte des Rinder-Hornhautendothels (warm abradiert). Mittelwerte M und Standardabweichung des Mittelwertes S_M in nMol/g Frischgewicht.

Metabolit	M	S _M	n
Lactat	5432	926	5
Pyruvat	195	24,1	5
L/P	28,8	6,14	5
DAP	53,3	24,4	4
Glucose	2144	389	5
ATP	180	16,1	5
ADP	38,8	4,52	5
ATP/ADP	4,97	0,81	5
AMP	26,9	5,88	5
AP	245,3	18,7	5

Tabelle 4

Metabolitgehalte des Rinder-Hornhautendothels
(Injektionsmethode).

Mittelwerte M und Standardabweichung des Mittel-
wertes S_M in nMol/g Frischgewicht.

2) Endothel-Metabolitbestimmungen nach Lagerung der Rinderaugen in einer feuchten Kammer.

Die Trübungsstadien der Hornhaut nach zunehmender Lagerungsdauer sind im methodischen Teil auf S. 11 beschrieben.

Die den folgenden Abbildungen zugrundeliegenden Einzelergebnisse finden sich auf den Seiten 41 - 42.

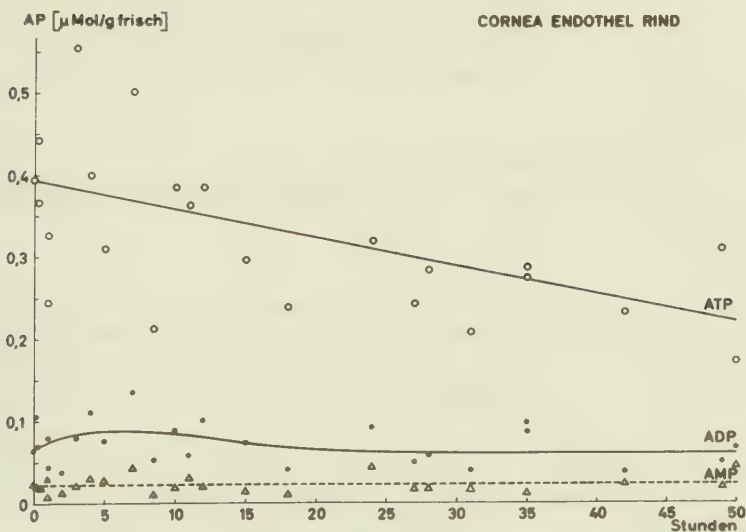


Abb. 2

Verhalten der Adenosinphosphate des Endothels nach Lagerung der Augen in einer feuchten Kammer. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; Ordinate; Metabolitgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Die Kurve des ATP fällt kontinuierlich ab, in den ersten Stunden zugunsten des ADP, dessen Gehalt leicht zunimmt, später aber konstant bleibt.

Bei gleichbleibendem Gefälle würde die ATP-Kurve die Abszisse bei ca. 100 Stunden schneiden, d.h. ATP wäre nicht mehr nachweisbar.

Im AMP-Gehalt ergeben sich keine nennenswerten Schwankungen.

Wie aus der Abbildung 2 ableitbar, sinkt die Summe der Adenosinphosphate ständig.

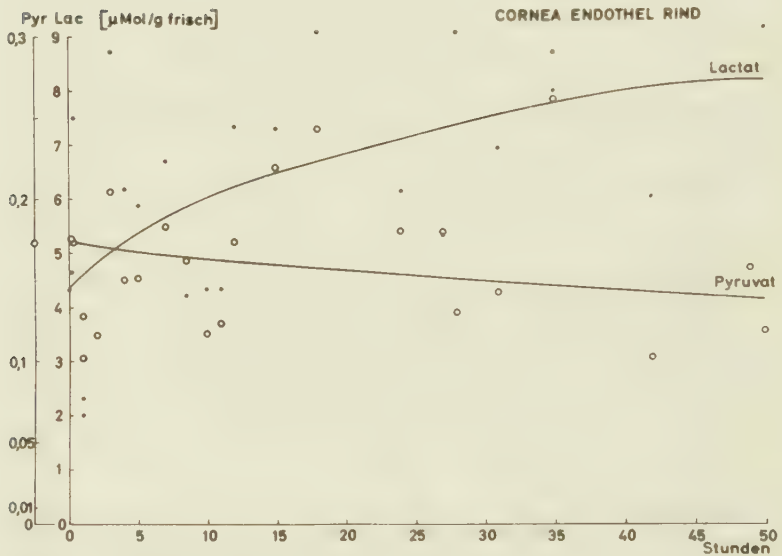


Abb. 3

Verhalten von Pyruvat und Lactat des Endothels nach Lagerung der Augen in einer feuchten Kammer. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; linke Ordinate: Pyruvatgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht, rechte Ordinate: Lactatgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Die Abb. 3 zeigt, daß sich der Lactatgehalt des Endothels innerhalb von 50 Stunden ungefähr verdoppelt, während der Pyruvatgehalt um ca. $1/5$ abnimmt.

Die große Streuung der Einzelergebnisse wird im Kapitel "Diskussion" begründet. In der folgenden graphischen Darstellung des Lactat/Pyruvat-Quotienten wirken sich diese Schwankungen verstärkt aus.

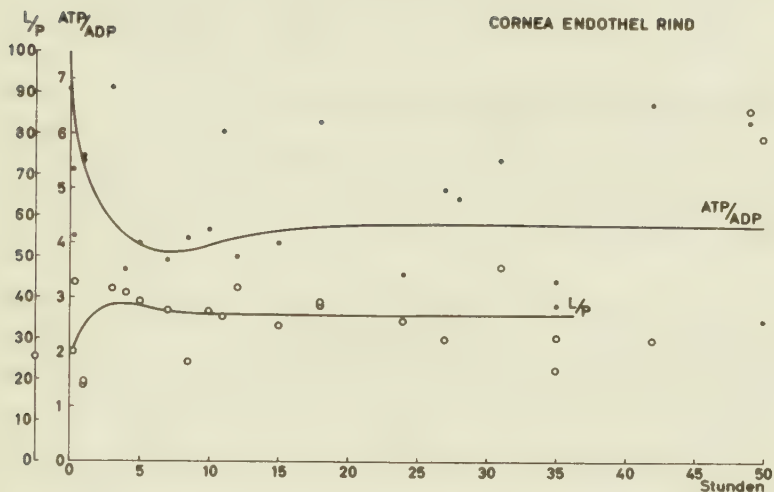


Abb. 4

Verhalten von Lactat/Pyruvat- und ATP/ADP-Quotienten des Endothels nach Lagerung der Augen in einer feuchten Kammer.

Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; linke Ordinate: L/P-Quotient, rechte Ordinate: ATP/ADP-Quotient.

Die Kurven in Abbildung 4 verhalten sich prinzipiell gegenläufig. Die stärksten Änderungen der Quotienten laufen in den ersten 6 Stunden ab, später stellt sich ein ungefähr gleichbleibendes Niveau ein. Nach ca. 35 Stunden werden die Schwankungen des Lactat/Pyruvat-Quotienten so stark, daß wir uns nicht zur Weiterführung der Kurve entschließen konnten. Wir erklären das Streuen der Einzelergebnisse durch die in diesem Stadium verschieden stark fortschreitenden autolytischen Veränderungen der gelagerten Augen. Andererseits fallen diese Schwankungen bei einem anderen Maßstab (siehe Abb. 10, Seite 34) nicht so stark ins Gewicht.

Das Verhalten der Glucose im Endothel bei Lagerung der Augen ist auf Seite 35 in Abb. 11 dargestellt. Von DAP, G-6-P und FDP sind keine graphischen Darstellungen gemacht, zumal sich aus den Einzelwerten (S. 41 - 42) keine eindeutige Tendenz erkennen läßt.

3) Metabolite des Kammerwassers in vivo.

Aus dem Kammerwasser von Rindern wurden folgende Metabolite bestimmt: Lactat, Pyruvat und Glucose. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Metabolit	M	S _M	n
Lactat	3307	146,4	8
Pyruvat	205	10,8	8
L/P	16,4	1,02	8
Glucose	3300	185,8	8

Tabelle 5

Metabolitgehalte des Rinderkammerwassers in vivo. Mittelwerte M und Standardabweichung der Mittelwerte S_M in nMol/g Frischgewicht.

Ein Metabolitmuster dieser Werte findet sich in Abb. 7 auf Seite 32.

Das Kammerwasser entnehmen wir mittels einer Rekordspritze innerhalb der ersten Minute nach Enucleieren der Augen und brachten es sofort anschließend in Perchlorsäure ein. Daher darf man die oben aufgeführten Ergebnisse als In-vivo-Werte ansehen.

4) Kammerwasser-Metabolitbestimmungen nach Lagerung der Rinderaugen in einer feuchten Kammer.

Die den folgenden graphischen Darstellungen zugrundeliegenden Werte finden sich auf S. 43 - 44.

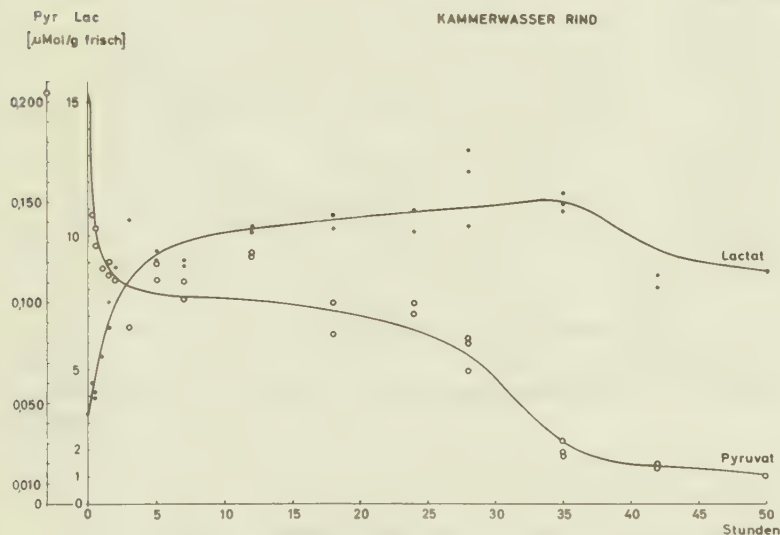


Abb. 5

Verhalten von Pyruvat und Lactat im Kammerwasser nach Lagerung der Augen.

Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; linke Ordinate: Pyruvatgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht, rechte Ordinate: Lactatgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Auffällig sind der Anstieg des Lactat und der starke Abfall des Pyruvat in den ersten 3 - 5 Stunden. Dann bleiben die Metabolitgehalte lange Zeit relativ konstant. Die fortschreitende Autolyse macht sich beim Pyruvat nach ca. 28 Stunden, beim Lactat nach 35 Stunden in sehr deutlichem Abfall der Metabolitkonzentrationen bemerkbar. Nach 50 Stunden ist das Pyruvat auf 1/15 des In-vivo-Wertes abgefallen; der Lactatgehalt erreicht sein Maximum nach 35 Stunden mit 340 % des Ausgangswertes.

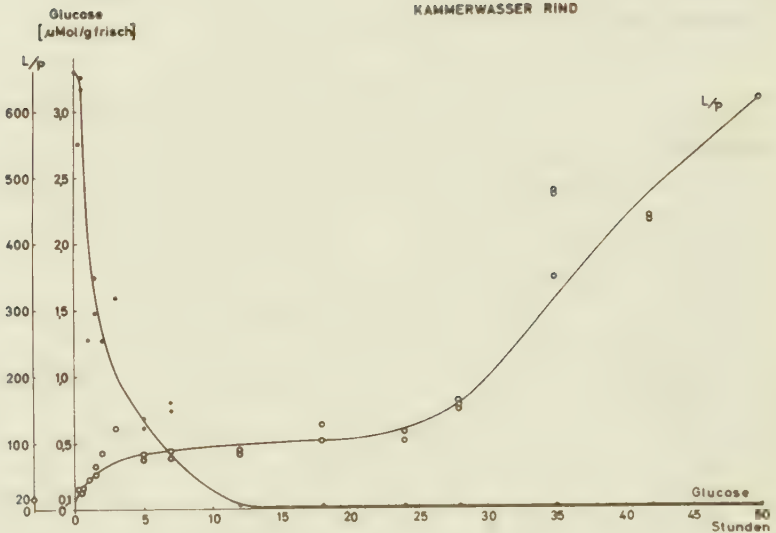


Abb. 6

Verhalten des Lactat/Pyruvat-Quotienten und des Glucosegehaltes im Kammerwasser nach Lagerung der Augen.

Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; linke Ordinate: Lactat/Pyruvat-Quotient, rechte Ordinate: Glucosegehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Der Lactat/Pyruvat-Quotient bleibt nach Anstieg in den ersten 5 Stunden bis zum Einsetzen stärkerer autolytischer Veränderungen annähernd konstant, um dann von der 28. Stunde an schnell zuzunehmen. Er erreicht nach 50 Stunden das 38-fache seines Ausgangswertes.

Die Kammerwasser-Glucose sinkt innerhalb von 2 - 3 Stunden auf die Hälfte ihrer In-vivo-Konzentration ab und ist schon nach 14 Stunden an der Grenze ihrer Nachweisbarkeit angelangt. Sie erweist sich damit als labilster der hier untersuchten Kammerwasser-Metabolite.

5) Die Metabolite des Rinderhornhaut-Stromas in vivo.

Die aus den Versuchsergebnissen auf S. 45 statistisch berechneten Metabolitkonzentrationen sind in Tab. 6 aufgeführt. Die wichtigsten dieser Metabolite sind in Abb. 7 auf S. 31 graphisch dargestellt.

Metabolit	M	S _M	n
Lactat	2364	263,3	5
Pyruvat	128,7	20,5	5
L/P	20,1	3,7	5
FDP	7,6		3
Glucose	1180	229	4
ATP	25,1	2,3	5
ADP	28,6	8,86	5
ATP/ADP	1,2	0,33	5
AMP	58,5	11,1	5
AP	112	20,0	5

Tabelle 6

Metabolitgehalte des Rinder-Hornhautstromas in vivo.
(Frieristop) Mittelwerte M und Standardabweichung
der Mittelwerte S_M in nMol/g Frischgewebe.

V. Diskussion

1) Kritische Betrachtung der Ergebnisse.

Ein Vergleich der Standardabweichungen der Endothelmetabolitmittelwerte mit denen des Kammerwassers zeigt, daß die Streuung der Endothelwerte recht groß ist. Das gilt in gleichem Maße für die Kinetik. Die Angaben über die Endothelmetabolite der Glykolysekette G-6-P, FDP und DAP sind wahrscheinlich nur als Maximalwerte anzusehen. Wir sind mit diesen Endothelversuchen an der Grenze unserer technischen Möglichkeiten angelangt; im einzelnen aus folgenden Gründen:

- a) Das Endothel ist im Gegensatz zum Epithel in vivo nicht direkt zugänglich und daher schwerer zu präparieren.
- b) Die Gewebseinwaage betrug bei einem Extraktvolumen von 2,1 ml nur ca. 4×10 mg Feuchtgewicht aus vier Rinderaugen.
- c) Ein weiterer Unsicherheitsfaktor ist, daß wir auf nachträgliche Berechnung des Feuchtgewichtes aus dem Gewicht des getrockneten Extraktsedimentes angewiesen waren.
- d) Kontrolltests waren außer für Lactat wegen des geringen Extraktvolumens nicht möglich, andererseits wäre bei einer weiteren Extraktverdünnung die Metabolitkonzentration noch geringer geworden.
- e) Bei den Lagerungsversuchen setzten die autolytischen Veränderungen in der Vorderkammer der Augen - im Gegensatz zu isoliert gelagerten Hornhäuten - verschieden schnell ein. Das wurde durch leicht unterschiedliche Trübung der Hornhäute bei gleicher Lagerungsdauer deutlich.

Da man andererseits annehmen darf, daß diese Fehlerquellen zum großen Teil durch Statistik und graphische Darstellung kompensiert werden, glauben wir trotzdem, ein recht gutes Bild des Metabolitstatus erhalten zu haben.

Die Qualität der Testmethoden im Prinzip wird bei den Kammerwasserversuchen deutlich.

Wir glauben von Endothelmetabolitbestimmungen aus einzelnen menschlichen Augen noch weit entfernt zu sein, zumal diese nur einzeln und gelegentlich anfallen.

2) Gegenüberstellung des In-vivo-Metabolitstatus von Epithel und Endothel.

	ENDOTHEL	EPITHEL
Lactat	4437	3506
Pyruvat	172	195
L/P	25,5	19,7
DAP	6,32	40,9
G-6-P	30,4	155
FDP	13,2	38,0
Glucose	1399	1842
ATP	394	3583
ADP	64,6	230
ATP/ADP	6,82	16,6
AMP	24,2	264
AP	483,6	3804

Tabelle 7

In-vivo-Metabolitgehalte von Epithel (rechts; nach REIM, M. und MEYER, D.) und Endothel des Rinder Auges in nMol/g Frischgewicht.

Ein Vergleich der Mittelwerte in Tabelle 7 zeigt, daß alle Metabolite im Epithel in größerer Konzentration vorhanden sind als im Endothel. Eine Ausnahme bildet das Lactat, was vielleicht durch unsere etwas längerdauernde Präparation erklärt werden kann. Bei etwa gleichem Pyruvatgehalt liegt

der Lactat/Pyruvat-Quotient im Endothel um ca. 25 % höher.

Besonders auffällig sind die Unterschiede bei den Adenosinphosphaten. Der ATP-Gehalt des Epithels liegt rund 9mal höher als im Endothel, obwohl letzteres viele Mitochondrien enthält, in denen die Phosphorylierung zum ATP stattfindet. Auch die ADP- und AMP-Werte sind 3,5- bzw. 11-fach größer als im Endothel. Damit ist auch die Summe der Adenosinphosphate im Epithel 8mal höher.

Nach BÜCHER ist der ATP/ADP-Quotient ein wichtiger Indikator für das Energiepotential von Gewebsverbänden bzw. ihrer Alteration. Im Endothel ist dieser Quotient um den Faktor 2,44 kleiner als im Epithel. Aufgrund dieser Überlegungen wäre der Anteil des Epithels an der Energieversorgung der Hornhaut größer als der des Endothels. Wenn man das Gewicht der beiden Grenzsichten und ihren ATP-Gehalt zugrunde legt, erhält man sogar ein Verhältnis von rund 50 : 1.

3) Vergleich einiger Metabolitkonzentrationen des Kammerwassers mit denen der verschiedenen Hornhautschichten.

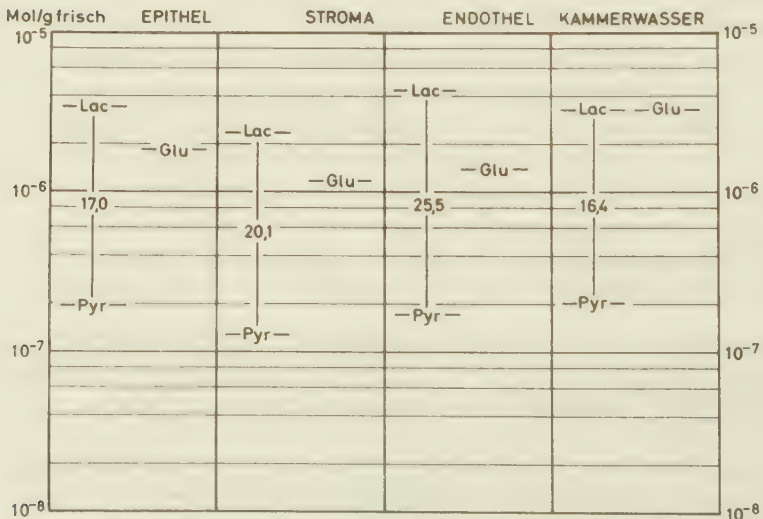


Abb. 7

Metabolite im Kammerwasser und den Hornhautschichten (in Mol/g Frischgewicht). Epithelwerte: persönliche Mitteilung von REIM und MEYER. Logarithmische Darstellung.

Aus Abbildung 7 ist ersichtlich, daß der Glucosegehalt des Kammerwassers ungefähr doppelt so groß ist wie der in den verschiedenen Hornhautschichten.

Der Lactat/Pyruvat-Quotient von Kammerwasser, Epithel und Stroma ist fast gleich, der des Endothels um 25 % größer. Das Endothel weist auch den höchsten Lactatgehalt auf.

4) Vergleiche der Metabolitveränderungen in Endothel und Kammerwasser bei Lagerung der Rinderaugen in einer feuchten Kammer.

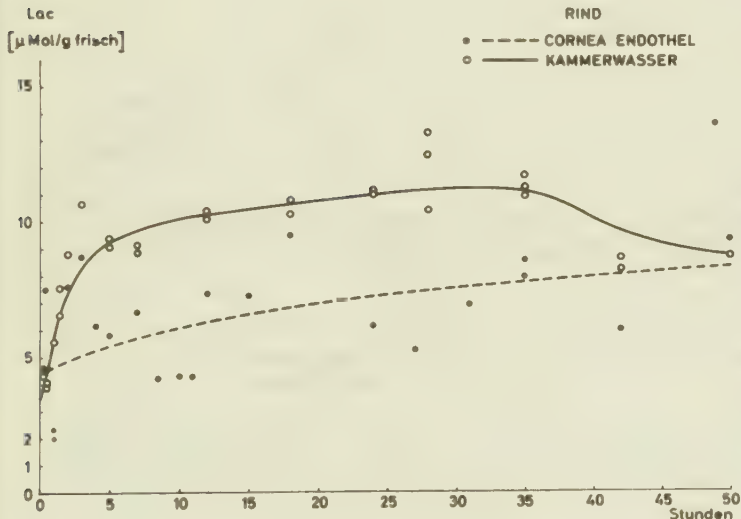


Abb. 8

Verhalten des Lactat in Kammerwasser und Endothel bei Lagerung. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; Ordinate: Metabolitgehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Der Lactatgehalt (Abb. 8) im Kammerwasser übersteigt den des Endothels innerhalb der ersten 5 Stunden um ca. 50 % und scheint sich von der 35. Stunde an dem Endothelniveau anzugleichen.

Mindestens bis zur 35. Stunde ist also die Funktion des Endothels als Grenzmembran erhalten, was auch aus dem Pyruvatgradienten und aus der Differenz des Lactat/Pyruvat-Quotienten (Abb. 9 bzw. 10) abzuleiten ist.

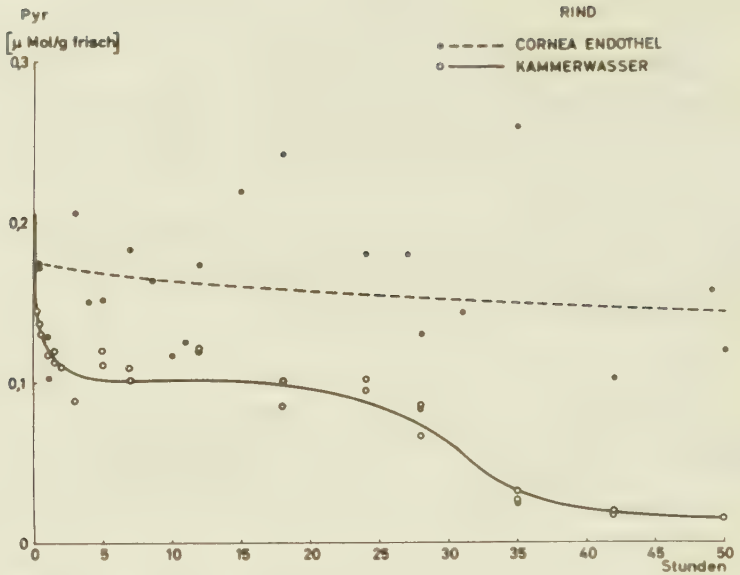


Abb. 9

Verhalten des Pyruvats in Kammerwasser und Endothel bei Lagerung. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; Ordinate: Pyruvatgehalt in μ Mol/g Frischgewicht.

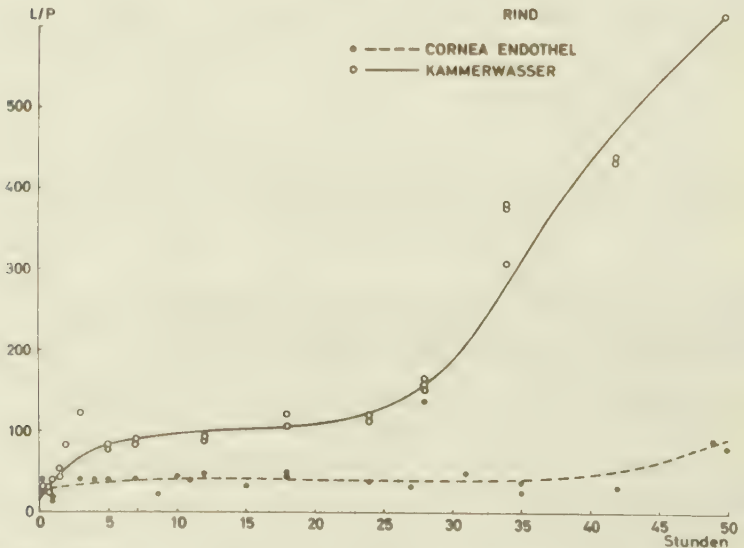


Abb. 10

Verhalten des Lactat/Pyruvat-Quotienten von Kammerwasser und Endothel bei Lagerung. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; Ordinate: L/P-Quotient.

Der hohe L/P-Quotient im Kammerwasser ist durch den Abbau der Brenztraubensäure im Kammerwasser verursacht, während das Pyruvat des Endothels kaum abnimmt.

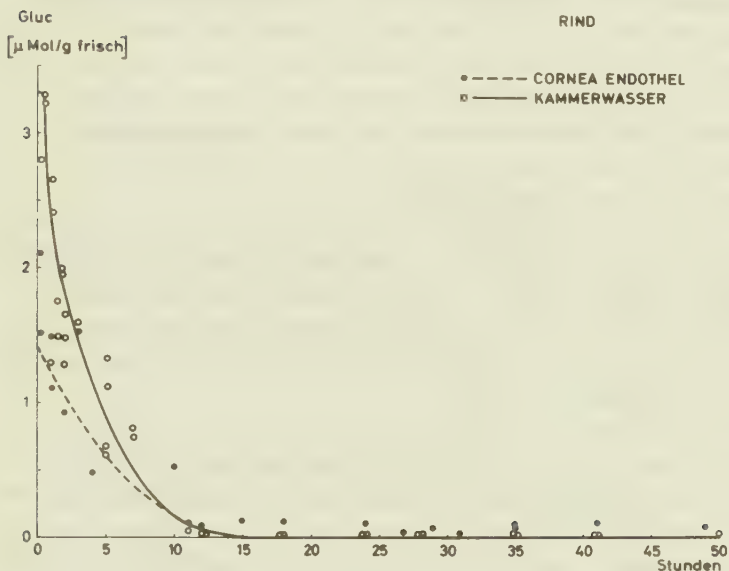


Abb. 11

Verhalten der Glucose in Kammerwasser und Endothel bei Lagerung. Abszisse: Lagerungsdauer in Stunden; Ordinate: Glucosegehalt in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewicht.

Die Abb. 11 zeigt, daß nach 10 Stunden ein völliger Ausgleich der Glucose zwischen Kammerwasser und Endothel stattgefunden hat. Vom höheren Ausgangswert sinkt die Kammerwasserglucose schneller ab, nach ca. 12 Stunden ist in beiden Medien dieser Metabolit ganz verschwunden. Aufgrund dieser graphischen Darstellung darf man annehmen, daß die Glucose aus dem Kammerwasser durch einfache Diffusion in das Endothel gelangt und so zur Aufrechterhaltung des energieliefernden Stoffwechsels der Hornhaut oder wenigstens des Endothels beiträgt.

5) Allgemeine biochemische Betrachtungen

Das beste uns zur Verfügung stehende Präparationsverfahren zur Aufstellung eines In-vivo-Metabolitstatus des Endothels ist das von HOHORST für verschiedene andere Gewebe ausgearbeitete Frierstopverfahren. Durch diese Behandlung blieben die Gehalte der Adenosinphosphate optimal erhalten. Sie sind im Epithel um eine Zehnerpotenz höher als im Endothel, auch der ATP/ADP-Quotient ist 2,5mal größer. Das könnte als Hinweis dienen, daß man die Rolle des Endothels bei der Energieversorgung der Hornhaut in der Vergangenheit überschätzt hat.

Die Diffusion von Glucose aus dem Kammerwasser in das Endothel erscheint wegen der geringen Molekülgröße einleuchtend. Andererseits ist aus unseren Versuchen für Lactat und Pyruvat eine gewisse Beschränkung der Diffusion durch das Endothel anzunehmen, sogar bis über 35 Stunden nach der Enucleation hinaus.

Aus interessanten Versuchen mit Kontaktlinsen entnahmen HILL und FATT, daß die Sauerstoffaufnahme durch das lebende Kaninchenepithel bei normalem Sauerstoffpartialdruck $5 \mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$ beträgt, DeROETHH Jr. fand dementsprechend für die gesamte Rinderhornhaut einen Wert um $22 \mu\text{l}/\text{h}$. Wenn man die Berechnungen von HILL und FATT auf das ganze Rinderstroma anwendet, können nach dem FICKschen Diffusionsgesetz jedoch in vivo nur ca. $1,2 \mu\text{l}/\text{h}$ diffundieren. Daraus würde folgen, daß nur ein geringer Teil des Sauerstoffbedarfs des Endothels von außen durch den Luftsauerstoff geliefert werden kann. Also müßte wahrscheinlich auch die O_2 -Versorgung des Endothels durch das Kammerwasser erfolgen. Dann können wir uns aber nicht erklären, warum der ATP-Gehalt im Endothel nicht schneller und stärker abfällt, wenn die Blutversorgung des Auges unterbrochen wird. Denn die zur oxydativen Phosphorylierung nötige Sauerstoffspannung ist nach JACOBI im Kammerwasser schon 2 Minuten nach Enucleation völlig abgesunken.

Die Metabolitbestimmungen dieser Arbeit können für sich allein sicher nicht die Fragen zum energieliefernden Stoffwechsel des Endothels beantworten.

Immerhin scheint die Möglichkeit zu bestehen, daß die Sauerstoffzufuhr für das Endothel als Voraussetzung für den oxydativen Stoffwechsel sowohl aus dem Kammerwasser als auch aus der Atmosphäre durch das Stroma hindurch erfolgen kann. Unter welchen Bedingungen der eine oder der andere Versorgungsweg in Betracht kommt, muß noch offen bleiben.

VI. Zusammenfassung

Aus der einschlägigen Literatur ergibt sich, daß Metabolitbestimmungen im Hornhautendothel neue Gesichtspunkte für die Corneaphysiologie bringen könnten.

Die Untersuchung des Hornhautendothels bereitet wegen seiner Lage an der Cornearückfläche technische Schwierigkeiten. Gegenüber verschiedenen Verfahren erwies sich ein eigens für dieses Gewebe entwickeltes Frierstopverfahren als gut geeignet zur Messung der In-vivo-Spiegel von Metaboliten des energieliefernden Stoffwechsels. Überraschenderweise lagen die Adenosinphosphatgehalte 10mal niedriger als im Epithel. Der ATP/ADP-Quotient war um das 2,5fache kleiner, Lactatgehalt und Lactat/Pyruvat-Quotient lagen im Endothel etwas höher als im Epithel.

Aus unseren Lagerungsversuchen ergaben sich Hinweise dafür, daß das Endothel für gewisse Stoffe eine Schranke zwischen Kammerwasser und Hornhaut darstellt, zum Beispiel für Lactat und Pyruvat, nicht aber für Glucose, die wahrscheinlich aus dem Kammerwasser in das Endothel diffundiert.

Die Sauerstoffzufuhr zum Endothel scheint sowohl aus der Atmosphäre durch das Stroma hindurch als auch aus dem Kammerwasser möglich zu sein.

Die relativ niedrigen Adenosinphosphatgehalte lassen annehmen, daß das Endothel trotz seines Mitochondrienreichtums beim energieliefernden Stoffwechsel der Hornhaut keineswegs eine größere Rolle spielt als das Epithel. Weitere Versuche sind jedoch, wie wir glauben, notwendig.

M E T H O D I S C H E R A N H A N G

Test Nr.	Lac	Pyr	I/P	DAP	G-6-P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP	AMP	AP
1	2670	169	15,8		25,5	16,6	1230	295	42,8	6,89	8,5	346,3
2	5810	157	36,9		36,0	19,7	1720	327	42,7	7,66	11,3	381,0
3	3400	161	21,2		32,5	5,3	1060	331	32,5	10,20	17,4	380,9
4	4750	229	20,7	4,33		9,8	1260	338	60,8	5,56	22,2	421,0
5	3930			3,25		2,7	1600	465	44,2	10,50	12,7	521,9
6	4440	169	26,3	12,0	12,8	10,1	1220	455	72,5	6,28	38,0	565,5
7	7460	212	35,2			29,7	1870	424	65,9	6,43	35,9	525,8
8	4210	124	34,0		40,7	12,4	1300	593	119,0	4,98	28,3	740,3
9	5190	225	23,1		28,8	14,7	1370	499	104,1	4,80	49,2	652,2
10	3250	141	23,0	4,78	51,3	14,8	1590	364	90,6	4,02	26,3	480,9
11	3950	152	26,0	6,11	15,6	8,7	1410	271	28,6	9,48	17,0	316,6
12	2990	159	18,8	7,49		15,0	1160	373	72,5	5,14	25,7	471,2

Tabelle 8

Einzelergebnisse der Metabolitbestimmungen aus Endothelextrakten, präpariert nach dem Frierstopverfahren.

DAP und G-6-P ließen sich nicht in allen Extrakten nachweisen.

Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Test Nr.	Lac	Pyr	L/P	DAP	G-6-P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP
13	7090	249	24,4	3,8	46,7	11,2	2960	41	251	0,16
14	4020	155	25,9	17,6		13,6	2880	159	181	0,88
15	5400	310	17,4	12,2	13,0	10,3	1760	132	109	1,21
16	3350	123	27,2			20,3	1130	78	72	1,08
17	4000	276	14,5	35,5	5,1		898	137	118	1,16
18	7630	255	29,9	15,6		11,1	3090	244	128	1,91

Tabelle 9

Einzelergbnisse der Metabolitbestimmungen aus Endothelextrakten,
Präparation: Wärme Abrasion.

Angaben in nMol/g Frischgewicht

Test Nr.	Lac	Pyr	L/P	DAP	G-6-P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP	AMP	AP
19	6700	286	23,4	121			1620	171	49,4	3,46	44,3	264,7
20	8000	154	52,1	57,2			3670	237	37,4	6,32	31,8	305,0
21	4380	180	24,3	18,0			1910	172	40,5	4,25	30,8	243,3
22	5450	194	28,1	17,3			1960	150	44,1	3,40	12,3	206,4
23	2630	163	16,1				1560	169	22,7	7,44	15,7	207,4

Tabelle 10

Einzelergbnisse der Metabolitbestimmungen aus Endothelextrakten,
Injektionsmethode.

G-6-P und FDP ließen sich in keinem dieser Extrakte nachweisen.
Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Stunden	Iac	Pyr	I/P	DAP	G-6-P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP	AMP	AP
1/6	4670	174	26,8		63,5	14,1	2110	366	68,8	5,33	21,1	455,9
1/4	7520	171	43,9				1510	444	108,0	4,12	19,8	571,8
1	1960	102	19,2	15,2		15,3	1500	328	79,4	4,14	30,5	437,0
1	2330	128	18,2	11,7	14,3	15,3	1100	242	43,0	5,63	9,6	294,6
3	8740	206	42,4			7,5	1520	556	80,5	6,91	21,4	657,9
4	6190	150	41,3			30,5	494	402	114,0	3,53	30,5	546,5
5	5870	151	38,9		28,0	11,1	700	312	76,5	4,07	27,7	416,2
7	6700	182	36,8	8,3	35,4	7,0	533	505	136,0	3,71	41,3	682,3
8 1/2	4200	163	24,8	63,0		25,3		213	51,6	4,13	9,7	274,3
10	4300	117	36,8			8,9	539	385	90,0	4,28	20,3	495,3
11	4300	123	35,1	13,0		8,7	101	365	60,2	6,06	31,1	456,3
12	7350	172	42,7	10,0	17,0		79	385	102,0	3,77	22,2	509,2
15	7290	220	33,1	25,4	32,3		136	296	73,7	4,02	14,3	384,0
18	9550	245	39,0	17,1			134	240	38,3	6,27	9,8	288,1
24	6120	181	33,8	21,5	13,7	5,4	111	321	93,0	3,45	46,7	460,7
27	5280	180	29,2	45,8	7,1	1,4	35	245	48,3	5,07	18,5	311,8
28	18100	129	140,3	6,4		4,8	82	286	59,4	4,81	20,1	365,5
31	6900	143	48,0			8,6	44	209	37,4	5,58	20,1	266,5

(Fortsetzung nächste Seite)

(Fortsetzung)

Stunden	Lac	Pyr	L/P	DAP	G-6-P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP	AMP	AP
35	7990	262	30,5			21,6	81	288	99,6	2,89		
35	8650	388	22,3			12,3	85	276	83,3	3,31	14,2	373,5
42	6000	101	29,6			10,5	117	233	35,1	6,64	30,7	298,8
49	13700	156	87,8	6,9		3,4	85	312	48,9	6,38	22,8	383,7
50	9410	118	79,7		11,4	13,5	97	172	68,5	2,60	45,0	285,5

Tabelle 11

Metabolitgehalte des Endothels nach Lagerung der Rinderaugen in einer feuchten Kammer. Präparation nach dem Frierstopverfahren.

Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Test Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glu
1	2860	207	13,8	3780
2	3100	184	16,9	3250
3	4020	175	23,0	3090
4	3350	215	15,6	3750
5	3180	203	15,7	3590
6	2820	166	17,0	3360
7	3410	248	13,8	3440
8	3720	243	15,3	2140

Tabelle 12

Einzelergebnisse der Metabolitbestimmungen
aus Kammerwasserextrakten (Annäherung an den
In-vivo-Status).

Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Stunden	Lac	Pyr	L/P	Glu
1/4	4550	144	31,6	2760
1/2	4260	137	31,1	3260
1/2	3940	129	30,5	3170
1	5550	117	47,4	1290
(1 1/6)				2650
(1 1/6)				2410
1 1/2	6570	120	54,8	1490
1 1/2	7530	114	66,1	1750
(1 4/6)				1990
(1 4/6)				1890
2	8820	112	86,5	1280
(2)				1470
(2)				1660
3	10700	87,5	122	1600
5	9020	120	75,2	688
5	9360	112	83,6	615

(Fortsetzung nächste Seite)

(Fortsetzung)

Stunden	Lac	Pyr	L/P	Glu
(5 1/4)				1310
(5 1/4)				1100
7	9130	102	89,5	806
7	8840	111	79,6	750
(9)				220
(9)				180
(11)				19,8
12	10400	124	83,9	27,6
12	10200	125	81,6	9,6
18	10300	101	102	1,4
18	10800	85	127	1,1
24	11000	95	116	2,2
24	10200	101	101	2,7
28	13300	83	160	4,0
28	12500	82	152	3,7
28	10400	67	155	4,4
35	11300	24	477	
35	11000	32	346	2,2
35	11700	25	470	2,7
42	8120	19	430	7,8
42	8610	20	433	4,6
50	8700	14	613	4,2

Tabelle 13

Metabolitgehalte des Kammerwassers nach Lagerung
in einer feuchten Kammer.

In Klammern: Glucose-Kontrollversuche.

Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Test Nr.	Lac	Pyr	L/P	FDP	Glu	ATP	ADP	ATP/ADP	AMP	AP
1	2480	128	19,4			33,3	29,4	1,13	63,2	125,9
2	2460	200	12,4	7,20	1210	26,8	17,0	1,56	57,5	101,3
3	3240	97	33,4		551	19,8	8,6	2,27	38,7	67,1
4	1870	137	13,6	8,56	1320	23,8	60,8	0,39	97,5	182,1
5	1770	82	21,6	6,96	1640	21,6	27,0	0,80	35,7	84,3

Tabelle 14

Einzelergebnisse der Metabolitbestimmungen aus Stroma-Extrakten,
Frierstopverfahren.

Angaben in nMol/g Frischgewicht.

Verzeichnis der Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AP	Adenosinphosphate
ALD	Aldolase
BTS	Brenztraubensäure
DPN	oxydiertes Diphosphopyridinnucleotid
DPNH	reduziertes Diphosphopyridinnucleotid
DAP	Dihydroxyacetonphosphat
EDTA	Äthylendiaminotetraessigsäure
FDP	Fructosediphosphat
GDH	Glycerin-1-phosphatdehydrogenase
Glu	Glucose
G-6-P	Glucose-6-phosphat
G-6-PDH	Glucose-6-phosphatdehydrogenase
HK	Hexokinase
L	Lactat
Lac	Lactat
LDH	Lactatdehydrogenase
MDH	Malatdehydrogenase
MK	Myokinase
nMol	10^{-9} Mol
PEP	Phosphoenolpyruvat
PK	Pyruvatkinase
P	Pyruvat
Pyr	Pyruvat
TIM	Triosephosphatisomerase
TPN	oxydiertes Triphosphopyridinnucleotid
TPNH	reduziertes Triphosphopyridinnucleotid
TRAP	Triäthanolamin-Puffer

Literaturverzeichnis

- De BERARDINIS, E., TIERI, O.: Rapport entre les concentrations de l'acide lactique dans l'humeur aqueuse et dans le plasma. Ann. Oculist. (Paris) 194, 411, 1961.
- , -, POLZELLA, A., IUGLIO, N.: The chemical composition of the human aqueous humor in normal and pathological conditions. Exp. Eye Res. 4, 179, 1965.
- BÜCHER, Th., LUH, W., PETTE, D.: Einfache und zusammengesetzte optische Tests mit Pyridinnucleotiden. Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl. Bd. VI, Teil A, S. 292, Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York 1964.
- CALMETTES, L., DEODATI, F., PLANEL, H., BEC, P.: Etude histologique et histochimique de l'epithelium anterieur de la cornee et de ses basales. Arch. Ophthal. (Paris) 16, 481, 1956.
- DAVSON, H.: Some considerations on the salt content of the fresh and the old ox cornea. Brit. J. Ophthal. 33, 175, 1949, Zit. in PIRIE, A., van HEYNINGEN, Biochemistry of the Eye, Blackwell Sci. Publ. Oxford 1956, S. 151.
- , The Eye, Bd. 1, Vegetative Physiologie and Biochemistry, Academic Press London, New York 1962.
- DELBRÜCK, A.: Enzymverteilungsmuster gefäßloser Gewebe. Klin. Wschr. 41, 488, 1963.
- , ZEBE, E., BÜCHER, Th.: Über Verteilungsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im Flugmuskel, Sprungmuskel und Fettkörper von Locusta migratoria und ihre cytologische Zuordnung. Biochem. Z. 331, 273, 1959.
- DONN, A., MAURICE, D. M., MILLS, N. L.: Studies on the living cornea in vitro. II: The active transport of sodium across the epithelium. Arch. Ophthal. N. Y. 62, 741, 1959. Zit. von MAURICE in The Eye, Edit. DAVSON Academic Press London, New York 1962, 332.
- DUKE-ELDER, W. S., PERKINS, E. S.: The transparency of the cornea. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 1960.

- ESSER, H., HEINZLER, F., PAU, H.: Elektrophoretische Trennung der Eiweißfraktionen im menschlichen Kammerwasser. Graefes Arch. Ophthalm. 155, 11, 1954.
- FRANÇOIS, J., RABAËY, M., EVENS, L.: Agar microelectrophoresis of the aqueous humor. Arch. Ophthalm. N. Y., 59, 692, 1958.
- FRENCH, R. C., DUMA, Z.: Studies on protein metabolism of the cornea. I: The distribution of nitrogenous solids in rabbit corneas. Canad. J. Biochem. 41, 1005, 1963.
- GREEN, K.: Ion transport across the Isolated Rabbit Cornea. Exp. Eye Res. 5, 106, 1966.
- HANNA, C., O'BRIEN, J. E.: Cell production and migration in the epithelial layer of the cornea. Arch. Ophthalm. N. Y. 64, 536, 1960. Zit. von MAURICE in The Eye, Edit. DAVSON, Academic Press London, New York, 1962.
- HARRIS, J. E.: The physiologic control of the corneal hydration. Amer. J. Ophthalm. 44, 262, 1957.
- HERRMANN, H., HICKMANN, F.: Exploratory studies on corneal metabolism. Bull. Johns Hopk. Hosp. 82, 225, 1948. Zit. PIRIE, A., van HEYNINGEN, Biochemistry of the Eye, Blackwell Sci. Publ. Oxford 1956, S. 151
- , LEBEAU, P. L.: ATP-level, cell injury, and apparent epithelium-stroma interaction in the cornea. J. Cell Biol. 13, 465, 1962.
- HILL, R. M., FATT, I.: Oxygen measurements under a contact lens. Amer. J. Optom. 41, 6, 382, 1964.
- , -, Oxygen deprivation of the cornea by contact lenses and lid closure. Amer. J. Optom. 41, 11, 678, 1964.
- HOHORST, H. J.: Der Reduktionszustand des Diphosphopyridinnucleotidsystems im lebenden Gewebe. Dissertation Marburg 1960.
- , KREUTZ, F. H., BÜCHER, Th.: Über Metabolitgehalte und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte. Biochem. Z. 332, 118, 1959.
- JAKUS, M. A.: The fine structure of the human cornea. In The structure of the eye. Edit. SMELSER, Academic Press London, New York 1961, S. 344.

- KAYE, G. I., PAPPAS, G. D.: Studies on the cornea. Fine structure of the rabbit cornea and the uptake and transport of colloidal particles by the cornea in vivo. *J. Cell. Biol.* 12, 457, 1962; *Cell. Biol.* 12, 481, 1962.
- KAWERAU, E., OTT, H.: The soluble proteins of the cornea. Paper- and immunoelectrophoretic studies. *Exp. Eye Res.* 1, 137, 1961.
- KIKKAWA, Y.: Corneal potential studied on whole eye. *Exp. Eye Res.* 5, 21, 1966.
- , Corneal potential studied on excised cornea. *Exp. Eye Res.* 5, 31, 1966.
- KINOSHITA, J. H., MASURAT, T.: Aerobic pathway of glucose metabolism in bovine corneal epithelium. *Amer. J. Ophthalm.* 48, 47, 1959.
- KUHLMAN, R. E.: Species variations in the enzyme content of the corneal epithelium. *J. Cell. comp. Physiol.* 53, 313, 1959. Zit. in REIM, SCHMIDT, MEYER: Die Metabolite des Energie liefernden Stoffwechsels im Hornhautepithel verschiedener Säugetiere. *Ber. dtsch. ophthalm. Ges.* 67, 134, 1965.
- LANGHAM, M. E., TAYLOR, I. S.: Factors affecting the hydration of the cornea in the excised eye and in the living animal. *Brit. J. Ophthalm.* 40, 321, 1956.
- , Corneal metabolism and its influence on corneal hydration in the excised eye and in the living animal. In *The transparency of the cornea*, DUKE-ELDER, W. S., PERKINS, E. S., Blackwell Sci. Publ. Oxford 1960.
- MAURICE, D. M.: The Cornea and sclera. In *The Eye*, Bd. 1, Edit. DAVSON, H., Academic Press, London, New York, 1962.
- MORLEY, N. H., TOTH, A.: Oxidized pyridine nucleotides and lactic acid in the corneal tissue of the rabbit. *Canad. J. Biochem.* 39, 477, 1961.
- PEDLER, C.: The fine structure of the corneal epithelium. *Exp. Eye Res.* 1, 286, 1962.
- PEÑA-CARILLO, J.: Histochemical aspects of the rabbits normal cornea and of experimental corneal grafts. *Ophthalmologia* 146, 260, 1963.

- POHJOLA, S.: The glucose content of the aqueous humor in man. Dissertation Helsinki 1966.
- REIM, M.: Untersuchungen über Enzymaktivitäten und Metabolitgehalte des energieliefernden Stoffwechsels in der Hornhaut. Habilitationsschrift, Marburg 1966.
- , LICHTHE, H.: Beziehungen zwischen Energiestoffwechsel und Hornhauttrübung, Graefes Arch. Ophthal. 168, 365, 1965.
- , SCHMIDT, F., MEYER, D.: Die Metabolite des energieliefernden Stoffwechsels im Hornhautepithel verschiedener Säugetiere. Ber. dtsh. ophthal. Ges. 67, 164, 1965.
- , MEYER, D., TURSS, R.: Some observations on the relation between energy producing metabolism and the transparency of the cornea. Referat, Symposium Biochemie des Auges, Tutzing, Internat. Ophthal.-Kongreß 1966. S. Karger Verlag, Basel, New York.
- RHODIN, J. A. G.: An atlas of ultrastructure. Saunders Comp. Philadelphia, London 1963.
- De ROETHH, A., Jr.: Respiration of the Cornea. Arch. of Ophth. 44, 666, 1950 und 45, 139, 1951. Zit. HILL, FATT, Oxygen measurements under a contact lens, Amer. J. Optom. 41, 382, 1964.
- ROHEN, J. W.: Das Auge und seine Hilfsorgane. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd. III: Haut und Sinnesorgane, 4. Teil, Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York 1964.
- SALLMANN, L. von, MOORE, D. H.: Electrophoretic patterns of concentrated aqueous humor of rabbit, cattle and horse. Arch. Ophthal N. Y. 40, 279, 1948. Zit. in DAVSON The Eye, Academic Press, London, New York 1962.
- SMELSER, G. K.: Morphological and functional development of the cornea. In The transparency of the cornea. Edit. DUKE-ELDER, W. S., PERKINS, E. S., Blackwell Sci. Publ. Oxford 1960.
- SÖLLNER, F.: Untersuchungen über altersbedingte Unterschiede im Stoffwechsel der Rinderhornhaut. Graefes Arch. Ophthal. 165, 600, 1963.

- , HOCKWIN, O.: Über den Gehalt frischer und konservierter Hornhäute an sauerlöslichen Phosphatverbindungen (Nucleotide). Graefes Arch. Ophthal. 167, 467, 1964.
- TENG, C. C.: The fine structure of the corneal epithelium and basement membrane of the rabbit. Amer. J. Ophthal. 51, 278, 1961.
- UNGER, H. H., ROHEN, J. W.: Studies on the histology of the inner wall of Schlemms canal. Amer. J. Ophthal. 48, 204, 1959.

Ich danke meinem Referenten, Herrn Doz. Dr. med. M. Reim, für die Themenstellung und seine Anleitung und Hilfe. Mein Dank gilt ebenso meinem Correferenten, Herrn Prof. Dr. med. W. Straub, für seine Unterstützung und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seiner Klinik.

An dieser Stelle möchte ich auch meinen akademischen Lehrern danken. Es sind dies die Herren Professoren und Dozenten in

MARBURG:

BERENDES, BRAUN-FALCO, DIMROTH, DÖLLE, EXNER, GEDIGK, HAMM, HARTMANN, HILDEBRANDT, HORNUNG, HUBER, JAKOB, KESSLER, LANG, LINNEWEH, LÜBBERS, MAHR, MARTINI, MARX, MAURATH, du MESNIL de ROCHEMONT, NIESSING, OVERBECK, PETRY, RODECK, ROHEN, SALFELD, SAUER, SCHIFF, SCHLEYER, SCHMID, SCHÖLMERICH, SCHWAIGER, SEIDEL, SIEGERT, SIESS, SPIEGELBERG, STRAUB, STREICHER, VOGT, WALCHER, WENDT, WÜRTERLE,

ERLANGEN:

BAUER, BLÜMLEIN, FISCHER, GRÄF, GROSCH, GUTHEIL, HAUG, HEIM, HEINKEL, KBIDEL, KNORR, LEONHARDT, MAY, MÜLLER, SCHÖN, SIEBECK, STEINHARDT, TRINCKER, WEINLAND, WINDORFER, WITTE.

Lebenslauf

Am 14. Juli 1939 wurde ich als Sohn des Dr. med. Kurt Turss, Facharzt für Orthopädie, und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Wiese, in Berlin geboren.

Nach vier Volksschuljahren besuchte ich von 1950 - 1953 das Zeppelin-Gymnasium in Lüdenscheid und von 1953 bis zum Abitur im März 1959 das Neusprachliche Gymnasium in Altena/Westf.

Nach zwei Semestern Medizinstudium bestand ich im Frühjahr 1960 das Vorphysikum in Marburg a. d. Lahn.

Vom Sommersemester 1960 bis zum Sommersemester 1962 war ich Student der Universität Erlangen, wo ich im Wintersemester 1961/62 das Physikum bestand.

Die Philipps-Universität in Marburg a. d. Lahn besuchte ich wieder vom Wintersemester 1962/63 bis zu meinem medizinischen Staatsexamen, das ich am 10. 9. 1965 bestand.

Medizinalassistent war ich bisher am Ev. Krankenhaus in Plettenberg/Westf., an der Universitäts-Augenklinik in Marburg und am Marienhospital in Duisburg-Hochfeld.

